

氏 名	塩 手 康 弘
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第 3287 号
学位授与の日付	平成18年12月31日
学位授与の要件	医学研究科病理系病態遺伝子解析専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Multiple splicing variants of Naf1/ABIN-1 transcripts and their alterations in hematopoietic tumors (Naf1/ABIN-1における多発スプライシングと血液腫瘍におけるスプライシング異常)
論文審査委員	教授 吉野 正 教授 許 南浩 助教授 池田 正徳

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

Naf1 (Nef-associated factor 1) / TNIP1 / ABIN-1 (A20-binding inhibitor of NF- κ B activation) は NF- κ B 阻害蛋白の A20 と相互に作用する細胞蛋白であり、NF- κ B と上皮成長因子(EGF) / ERK2 核内シグナルを阻害する。また後天性免疫不全症候群(AIDS)の発症とヒト免疫不全ウイルス(HIV)-1 の増殖に重要な HIV-1 Nef 蛋白に結合し、その働きを阻害する。Naf1 mRNA は 18 個の exon からなり、複数の splice variant が報告されている。すなわち、2 種類の exon1 の存在、exon2 の欠落、 α と β の 2 種類の exon18、およびそれらの組み合わせである。

我々は 29 例の急性骨髄性白血病(AML)患者の骨髓と末梢血検体について Naf1 遺伝子近傍に位置する STS マーカー D5S2014 において高頻度に片方の allele の欠失を認めた。そこで白血病・リンパ腫細胞株と 6 例の AML の臨床検体を用いて Naf1 蛋白コード領域の突然変異解析と発現解析を行ったところ、変異は認められなかったが、発現解析では Naf1 遺伝子の新たな splice variant を発見し、Naf1 α 2、Naf1 β 2 (exon16 欠落型)、Naf1 α 3、Naf1 β 3 (exon16 欠落かつ intron の挿入型)、Naf1 α 4 (exon16, 17 欠落型)と名付けた。Naf1 α 3 と β 3 は intron 配列の挿入によりフレームシフト変異を示した。健常成人の末梢血単核球においては Naf1 α 3、Naf1 β 3 や exon 欠落のない Naf1^{FL}の発現は殆どみられなかった。一方、AML 芽球や大部分の白血病・リンパ腫細胞株ではそれらの発現が明らかであった。Naf1 α 2 は各種細胞株や AML 芽球、健常成人末梢血単核球など、調べた全ての検体において発現しており、Naf1 遺伝子の主要な転写産物であると考えられた。ルシフェラーゼ・アッセイにおいて Naf1 α 2 は Naf1^{FL}と同等かそれ以上の NF- κ B 抑制効果を、Naf1 α 4 はそれらよりも弱い抑制効果を示した。AML の診断時と治療寛解期の臨床検体の比較では、Naf1 α 3 の発現は芽球の多い診断時でより強く、治療寛解期では比較的弱い傾向があり、これは Naf1 α 3 の dominant negative 効果を示唆する。

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は急性骨髄性白血病患者の骨髓、末梢血検体について Nef-associated factor 1 (Naf1)遺伝子近傍に高率に LOH を認めた。そこで白血病リンパ腫細胞株と 6 例の AML 検体について Naf1 蛋白コード領域の突然変異と発現解析を行った。その結果 Naf1 遺伝子の新たな splice variant を見出した。その中のふたつ、Naf1 α 3 と β 3 はイントロン配列の挿入によりフレームシフト変異を示した。健常成人の末梢血単核球においては、Naf1 α 3、Naf1 β 3 やエクソン欠落のない Naf1 の発現はほとんど見られなかった。一方、AML 芽球や全ての細胞株はそれらの発現が明らかであった。Naf1 α 2 は各種細胞株や AML、健常人末梢血単核球に発現しており、Naf1 の転写産物であると考えられた。

実験の目的、手法、結果とその解釈とも適切になされており、Naf1 遺伝子について重要な知見を得たものと評価される。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。